バセドウ病における流血中免疫複合体の研究

浜松医科大学第三内科

(主任：山崎 昇教授)

船 内 正 憲

The Role of Circulating Immune Complexes in the Pathogenesis of Graves' Disease

Masanori FUNAUCHI

Third Department of Internal Medicine,
Hamamatsu University, School of Medicine,
Hamamatsu, Japan

(Director: Professor Noboru Yamazaki)

It has recently been reported that many immunological abnormalities including the presence of TSH-receptor antibody (TRAb) were found in Graves' disease (GD). Circulating immune complexes (CIC) have also been detected in the serum of patients with GD as observed in systemic lupus erythematosus, which is thought to be a typical model of immune complex disease. The role of CIC in pathogenesis of hyperthyroidism, however, remains to be elucidated. Therefore, to clarify pathophysiological functions of CIC in GD, the levels of it in those patients were compared with their symptoms, those of TRAb, and lymphoblastogenesis (LBG) induced by phytohemagglutinin (PHA), concanavalin A (Con A), and pokeweed mitogen (PWM). The subjects were forty patients with GD without any medication, one hundred and nine patients with GD on medication with methimazole (MMI), and fifteen healthy volunteers. CIC was measured by three different methods; polyethylene-glycol precipitation method (PEG), Clq binding assay (Clq), and Protein A binding assay (PA). The normal range was estimated with the mean plus or minus two times the standard deviation of normal controls.

In untreated GD, CIC determined by PEG, Clq and PA widely distributed from normal range to high levels. The positive rates of CIC determined by PEG, Clq, PA, and any one method of these three were 17.5%, 22.5%, 30.0% and 52.5%, respectively. LBG using incorporation of tritiated thymidine showed the decreases in PHA and Con A, and the increases in PWM in patients with GD. The positive rates of CIC determined by PEG and PA were significantly higher in patients without goiter or with small one than those with large one ($p<0.05$). CIC measured by all three of PEG, Clq and PA showed negative correlation with TRAb significantly ($p<0.05$, $p<0.01$, $p<0.01$, respectively). On the other hand, CIC measured by Clq showed significant negative correlation with serum thyroxine concentration ($p<0.01$). The levels of CIC, TRAb and PWM-induced LBG decreased following the tapering

dose of MMI sufficient to keep patients in euthyroid state. In consequence, there were no longer any correlations between CIC and TRAb after thyroid function was normalized.

These observations suggest that CIC's which have huge molecular weight or have ability to bind Fc receptor on K cell, macrophage, neutrophil, and other immune cells may be one of the factors to inhibit the goitrogenic action of TRAb, and that CIC's which have ability to activate the complement system may be one of the factors to inhibit the stimulation of secretion of thyroid hormone by TRAb. Therefore, CIC in untreated GD may play an important role to render the hyperthyroidism to remission through the inhibition of the stimulation of thyroid gland by TRAb. The production of TRAb might be facilitated by the reduced function of suppressor T cell and the activated function of B cell in this disease. The improvement of hyperthyroidism due to the reduction of TRAb during the treatment with MMI was not dependent on CIC but predominantly on the inhibition of the function of B cell which might be affected by MMI.

緒 言

バセドウ病は、甲状腺濾胞上皮細胞の膜表面に存在する TSH レセプターに対する自己抗体が、甲状腺を刺激することによって惹起される、V 型アレルギーの代表的な免疫疾患とされている²⁷⁾。本症には、刺激性抗体の出現のみならず、種々の体液性および細胞性^{2) 30)} 免疫異常が報告されており、SLE 等に見られる流血中免疫複合体が^{24) 33)}、本症にも認められると報告されているが^{3) 4) 6) 13) 34)}、本症における、これらの免疫異常と、本症の病因、病態との関係については、なお、不明な点が少なくない。

本研究では、バセドウ病に見られる流血中免疫複合体が、その病因、病態に、いかなる役割を果たしているかを明らかにする目的で、流血中免疫複合体と、本症の病態、抗 TSH レセプター抗体、あるいは、細胞性免疫能との関係を検討し、あわせて、本症における免疫機構の基本的な異常について考察を加えた。

対象および方法

I 対 象

浜松医科大学付属病院第三内科を訪れた、未治療バセドウ病(以下 GD)40例、methimazole(MMI)治療中 GD 109例、健康成人(N)15例の計164例を対象とした。

II 方 法

1 流血中免疫複合体(CIC)の測定

1) Polyethyleneglycol (PEG) 沈降法(PEG) 法

安倍法¹⁾に準じて行なった。即ち、患者血清100 μ lに、8%PEG100 μ lを添加し、混和後、4℃、60分間、静置した。次いで、4℃、1500 $\times$ G、60分間、遠心し、沈渣を、4%PEG 2mlに溶解し、さらに、4℃、1500 $\times$ G、60分間の遠心を行なった。沈渣を0.15M NaCl加0.01M 燐酸緩衝液(PBS) pH7.4 2mlに溶解し、280nmの吸光度を測定した。

2) CIq 結合法(CIq法)

健康成人男子5名より得たプール血清から、米増の方法³⁶⁾により、CIqを精製した。精製CIqを、クロラミンT法にて¹²⁵I(RCCアマシャム)で標識し、セファデックス G-25にて、分画精製した。

CIq法は、Zublerら³⁷⁾の方法に準じて行なった。即ち、56℃、30分間、インキュベートして非働化した患者血清50μlに、0.2Mエチレンジアミン四酢酸(EDTA)100μlを加えて混和し、30分間、インキュベートした。次に、4℃で、約10000cpmの¹²⁵I-CIq50μlおよび3%PEG1mlを加えて混和し、4℃にて、60分間、静置した。次いで、4℃、1500×G、20分間、遠心し、沈渣をオートマチックウェル型ガンマーカウンター(日立)にて、放射能(A)を計測した。別に、非働化正常ヒト血清50μlに、¹²⁵I-CIq100μlおよび15%トリクロロ酢酸(TCA)1mlを加え、同様の操作を行ない、得られた沈渣の放射能(Tc)を計測し、各検体のA/Tc×100より、結合能(%)を算出した。

3)Protein A 結合法(PA法)

40μgのProtein A(Sigma)より、CIq法と同様にして、¹²⁵I-Protein Aを分画精製した。PA法は、Hällgrenら¹²⁾の方法に準じて行なった。即ち、非働化した患者血清100μlに、PBS100μl、0.4M EDTA100μl、5%PEG300μl、および、約10000cpmに調整した¹²⁵I-Protein A100μlを加えて混和し、4℃、16時間、静置した後、4℃、1500×G、20分間、遠心した。沈渣を、0.15M NaCl1mlで洗浄し、オートマチックウェル型ガンマーカウンターにて、放射能(B)を計測した。別に、非働化正常ヒト血清100μlに、¹²⁵I-Protein A100μl、および、15%TCA1mlを加え、同様の操作を行ない、得られた沈渣の放射能(Tp)を計測し、B/Tp×100より、結合能(%)を算出した。

2 リンパ球幼若化反応(LBG)の測定

末梢血5mlよりFicoll-Paque比重遠心法にて、単核球を分離し、PBSにて、2回洗浄した後、10%ヒトAB型血清、合成ペニシリン(GIBCO)100IU/ml、ストレプトマイシン(GIBCO)100μg/ml、Hepes緩衝液(GIBCO)25mM/lを含むRPMI 1640(ニッスイ)にて、1×10⁶個/mlに調整し、その200μlをデイスペンサー(Hamilton)にて、96穴、U底マイクロプレート(Nunc)の各ウェルに分注した。次いでphytohemagglutinin(PHA, DIFCO), concanavalin A(Con A, Boehringer), pokeweed mitogen(PWM, DIFCO)を、それぞれ、1.0μg/ml、5.0μg/ml、50μg/mlとなるように、マイクロデイスペンサー(Hamilton)にて添加し、37℃、5%CO₂、湿度100%にて、92時間、培養した。培養終了20時間前に、マイクロデイスペンサーにて、³H-thymidine(³H-TdR, RCCアマシャム)を1μCi/mlとなるように添加し、培養終了後、mini Mash オートマチックセルハーベスター(ラボサイエンス社)にて、細胞をフィルターLM101-10(ラボサイエンス社)上に採取し、乾燥後、液体シンチレーションカウンター(アロカ)にて、³H-TdRの細胞への取込みを測定した。各測定値は、net cpmで表わした。

3 Long acting thyroid stimulator (LATS) の測定

McKenzie¹⁹⁾のマウス bioassay 法にて行ない、150%以上の血中¹³¹Iの増加を示したものを、LATS陽性とした。

4 TSHレセプター抗体(TRAb)の測定

Smith²⁰⁾のキット(トラベノール社)により測定し、TSH binding inhibition(%)で表わした。

5 血中サイロキシシン(T₄)、トリヨードサイロニン(T₃)、遊離サイロキシシン(FT₄)の測定

T₄はスパックT₄(第一アイソトープ)、T₃は、アマレックスT₃(科研化学)、FT₄は、アマレックスFT₄(科研化学)ラジオイムノアッセイキットにより測定した。

6 抗サイログロブリン抗体(TGHA)、抗マイクロゾーム抗体(MCHA)の測定

TGHAは、サイロイドテスト(富士臓器)、MCHAは、マイクロゾームテスト(富士臓器)により測定した。

推計学的検討は、Student's t 検定、X²検定、および、F検定により行なった。

Fig. 1. Circulating immune complexes detected by polyethyleneglycol precipitation method (PEG), Clq binding assay (Clq), and Protein A binding assay (PA) in forty patients with Graves' disease (GD) and fifteen healthy volunteers (N), Shaded area indicates normal range.

—○—: mean $\pm$ SEM.

結 果

1 未治療GDおよびNのCIC値 (Fig. 1)

1) PEG法によるCIC値

280nmの吸光度で示したCIC値の平均値 $\pm$ SDは、N: 0.18 ± 0.04 , 未治療GD: 0.20 ± 0.12 で、Nの平均値 $\pm$ 2SDから算出した正常範囲: $0.10 \sim 0.26$ に対し、未治療GDは、 $0.07 \sim 0.64$ に分布し、正常上限を越えるものを、CIC陽性とする、17.5%が陽性であった。

2) Clq法によるCIC値

^{125}I -Clqの結合能(%)で表わしたCIC値は、N: $15.8 \pm 3.2\%$, 未治療GD: $17.5 \pm 7.2\%$ で、正常範囲: $9.5 \sim 22.1\%$ に対し、未治療GDは、 $4.8 \sim 37.9\%$ に分布し、22.5%が陽性であった。

3) PA法によるCIC値

^{125}I -Protein Aの結合能(%)で表わしたCIC値は、N: $4.4 \pm 0.7\%$, 未治療GD: $7.0 \pm 8.6\%$ で、正常範囲: $3.0 \sim 5.8\%$ に対し、未治療GDは、 $1.6 \sim 42.9\%$ に分布し、30.0%が陽性であった。

2 PEG法, Clq法, PA法によるCIC値相互の関係

未治療GD40例の、3法によるCIC値は、PEG法とClq法、PEG法とPA法、Clq法とPA法の各2法によるCIC値の間の相関係数が、それぞれ0.0326, 0.0285, -0.2815 で、各測定法によるCIC値相互の間に、推計学的に有意の相関関係を認めなかった。

Table 1. Relationship between the positive rates of CIC and goiter, exophthalmos, and pretibial myxedema in patients with Graves' disease without any medication. Roman number indicates the degree of enlargement of thyroid gland. Parenthesis indicates number of patients.

*: $p < 0.05$ vs 11-1V, **: $p < 0.05$ vs Negative.

Method for detection of CIC	Goiter			Exophthalmos		Pretibial myxedema	
	0-I (14)	II (12)	III-IV (14)	Pos. (15)	Neg. (25)	Pos. (2)	Neg. (38)
PEG	* 35.7(5)	8.3(1)	7.1(1)	6.7(1)	24.0(6)	0 (0)	18.4(7)
CIq	21.4(3)	25.0(3)	21.4(3)	26.7(4)	20.0(5)	50.0(1)	21.1(8)
PA	* 57.1(8)	16.7(2)	14.3(2)	** 46.7(7)	20.0(5)	50.0(1)	28.9(11)

(%)

3 臨床症状とCIC陽性率との関係 (Tab. 1)

1) 甲状腺腫とCIC陽性率との関係

七条氏分類による甲状腺腫大度が、I度以下の14例(A)、II度の12例(B)、III度以上の14例(C)の3群に分けると、各群のCIC陽性率は、PEG法で、A:35.7%, B:8.3%, C:7.1%, CIq法で、A:21.4%, B:25.0%, C:21.4%, PA法で、A:57.1%, B:16.7%, C:14.3%で、I度以下の群で、PEG法およびPA法によるCICの陽性率が、II度以上の群に比し、有意に高いことを認めた ($p < 0.05$)。

2) 眼球突出とCIC陽性率との関係

Hertel眼突計にて、17mm以上の眼球突出、もしくは、左右差が、1mm以上を示すものを、眼球突出陽性とする、眼球突出陽性の15例、および、陰性の25例のCIC陽性率は、PEG法で、陽性群:6.7%, 陰性群:24.0%, CIq法で、陽性群:26.7%, 陰性群:20.0%, PA法で、陽性群:46.7%, 陰性群:20.0%で、眼球突出陽性群は、PA法によるCICの陽性率が、陰性群に比し、有意に高いことを認めた ($p < 0.05$)。

3) 前脛骨部粘液水腫とCIC陽性率との関係

前脛骨部粘液水腫が陽性の2例、および、陰性の38例のCIC陽性率は、PEG法で、陽性群:0%, 陰性群:18.4%, CIq法で、陽性群:50.0%, 陰性群:21.1%, PA法で、陽性群:50.0%, 陰性群:28.9%であったが、推計学的に有意の差は認められなかった。

4 CIC値と、血中甲状腺ホルモン値との関係

1) PEG法によるCIC値と血中 T_4 、 T_3 値、 FT_4 値との関係

未治療GD40例のCIC値と血中 T_4 、 T_3 値、および、未治療GD13例のCIC値と血中 FT_4 値との間の相関係数は、それぞれ、 -0.0700 、 -0.1395 、 -0.3091 で、推計学的に有意の相関関係は認められなかったが、CIC陽性の7例は、全例、 T_4 が $22.0\mu\text{g/dl}$ 以下、 T_3 が 500ng/dl 以下、 FT_4 を測定し得た2例は、その値が、 5.0ng/dl 以下であった。

2) CIq法によるCIC値と、血中 T_4 、 T_3 、 FT_4 値との関係

未治療GD40例のCIC値と血中 T_4 、 T_3 値、および、未治療GD13例のCIC値と血中 FT_4 値との間の相関係数は、それぞれ、 -0.4774 、 -0.0465 、 -0.4560 で、CIq法によるCIC値と、血中 T_4 値

との間に、有意の負の相関関係を認めた($p < 0.01$) (Fig. 2)。また、CIC陽性の9例は、全例、 T_4 が $22.0 \mu\text{g/dl}$ 以下、 T_3 が 500ng/dl 以下、 FT_4 を測定し得た2例は、その値が、 5.0ng/dl 以下であった。

3) PA法によるCIC値と、血中 T_4 、 T_3 、 FT_4 値との関係

未治療GD40例のCIC値と、血中 T_4 、 T_3 値、および、未治療GD13例のCIC値と血中 FT_4 値との間の相関係数は、それぞれ、 -0.1302 、 -0.1112 、 -0.2921 で、推計学的に有意の相関関係は認めなかったが、CIC陽性の12例のうち、10例は、 T_4 が $22.0 \mu\text{g/dl}$ 以下、 T_3 が、 500ng/dl 以下で、 FT_4 を測定した2例は、その値が、 5.0ng/ml 以下であった。

Fig. 2. Correlation between circulating immune complexes detected by Clq binding assay and serum thyroxine concentration.

Fig. 3. Correlation between TSH receptor antibody (TRAb) and circulating immune complexes detected by polyethyleneglycol precipitation method (PEG), Clq binding assay (Clq), and Protein A binding assay (PA) in untreated Graves' disease.

5 CIC 値と TRAb 値との関係 (Fig. 3)

Smith のキットによる TRAb 値の正常範囲: $-15.0 \sim 15.0\%$ に対し, 未治療 GD 30 例の TRAb 値は, $-18.6 \sim 90.2\%$ に分布し, 15% を越えるものを陽性とする, 86.4% が陽性を示した。PEG 法, CIq 法, PA 法による CIC 値と TRAb 値との間の相関係数は, それぞれ, -0.4644 , -0.5600 , -0.5679 で, いずれの測定法による CIC 値も, TRAb 値との間に, 有意の負の相関関係を認めた (それぞれ, $P < 0.05$, $P < 0.01$, $P < 0.01$)。一方, MMI による治療後, 甲状腺機能が正常化し, T_4 が $12.0 \mu\text{g/dl}$ 以下, T_3 が 190ng/dl 以下, FT_4 が 1.7ng/dl 以下となった時点での両者の間には, 推計学的に有意の相関関係を認めなかった。

6 CIC 値と抗甲状腺抗体価との関係

1) CIC 値と MCHA との関係

未治療 GD 35 例における, 3 法による CIC 値と MCHA との間には, 推計学的に有意の相関関係を認めなかった。

2) CIC 値と TGHA との関係

未治療 GD 35 例における, 3 法による CIC 値と TGHA との間には, 推計学的に有意の相関関係を認めなかった。

7 CIC 値と LATS との関係

LATS 陽性の 7 例と, 陰性の 12 例の CIC 値は, PEG 法で, 陽性群: 0.16 ± 0.06 , 陰性群: 0.20 ± 0.08 , CIq 法で, 陽性群: $15.0 \pm 5.8\%$, 陰性群: $18.1 \pm 3.9\%$, PA 法で, 陽性群: $6.0 \pm 3.8\%$, 陰性群: $13.8 \pm 13.4\%$ で, 推計学的に有意の差は認められなかったが, いずれの測定法による CIC 値も, LATS 陰性群で, 高値の傾向を認めた。

Fig. 4. Lymphoblastogenesis induced by Phytohemagglutinin (PHA), Concanavalin A (Con A), and Pokeweed Mitogen (PWM) in patients with Graves' disease (GD) and normal volunteers (N). Shaded area indicates normal range.

8 未治療GDの非特異的マイトゲン刺激による LBG (Fig. 4)

1) PHA 刺激による LBG

N の平均値 $\pm$ 2 SD から算出した正常範囲：36286～62286cpm に対し，未治療 GD 21 例の LBG は，14771～57290 cpm に分布し，38.1% が，正常下限より低値を示した。

2) Con A 刺激による LBG

正常範囲：3706～16106cpm に対し，未治療 GD 12 例の LBG は，860～15221cpm に分布し，50.0% が，正常下限より低値を示した。

3) PWM 刺激による LBG

正常範囲：12013～27221cpm に対し，未治療 GD 13 例の LBG は，12431～41738cpm に分布し，30.8% が，正常上限より高値を示した。

9 LBG と TRAb 値との関係

1) PHA 刺激による LBG と TRAb 値との関係

未治療 GD 18 例の PHA 刺激による LBG と TRAb 値との間に，推計学的に有意の相関関係を認めなかった。

2) Con A 刺激による LBG と TRAb 値との関係

未治療 GD 12 例の Con A 刺激による LBG と TRAb 値との間に，推計学的に有意の相関関係を認めなかった。

Fig. 5. Correlation between PWM-induced lymphoblastogenesis and TSH receptor antibody (TRAb) in patients with Graves' disease without any medication.

3) PWM 刺激による LBG と TRAb 値との関係 (Fig. 5)

未治療 GD 13 例の PWM 刺激による LBG と TRAb 値との間の相関係数は、0.6178 で、有意の正の相関関係を認めた ($p < 0.05$)。

10 LBG と CIC 値との関係

1) PHA 刺激による LBG と CIC 値との関係

未治療 GD 22 例の PHA 刺激による LBG と、いずれの測定法による CIC 値との間にも、推計学的に有意の相関関係を認めなかった。

2) Con A 刺激による LBG と CIC 値との関係

未治療 GD 16 例の Con A 刺激による LBG と、いずれの測定法による CIC 値との間にも、推計学的に有意の相関関係を認めなかった。

3) PWM 刺激による LBG と CIC 値との関係

未治療 GD 13 例の PWM 刺激による LBG と、いずれの測定法による CIC 値との間にも、推計学的に有意の相関関係を認めなかった。

Fig. 6. Circulating immune complexes detected by polyethyleneglycol precipitation method (PEG), Clq binding assay (Clq), and Protein A binding assay (PA) in patients with Graves' disease before and during the treatment with methimazole (MMI). Shaded area indicates normal range.

—○—: mean $\pm$ SEM.

11 MMI 維持量別の CIC 値および CIC 陽性率 (Fig. 6, Tab. 2)

MMI は、1 日 30mg より投与を開始し、以後、正常甲状腺機能を維持するに必要な MMI 投与量、(維持量)となる様、段階的に減量した。

1) PEG 法による CIC 値および CIC 陽性率

未治療 GD 40 例、および、MMI 25mg 以上の維持量を必要とした群 (M_1) 39 例、15~20mg 維持量投与群 (M_2) 14 例、10mg 維持量投与群 (M_3) 21 例、5mg 以下の維持量投与群 (M_4) 35 例の PEG 法に

Table 2. Positive rates of CIC in patients with Graves' disease before and during the treatment with methimazole (MMI). Parenthesis indicates number of patients.

*: $p < 0.05$, **: $p < 0.02$, ***: $p < 0.01$ vs patients without any medication.

Treatment	Dose	n	Positive rate of CIC detected by		
			PEG	Ciq	P A
Untreated		40	17.5 (7)	22.5 (9)	30.0 (12)
Treated $\bar{c}$ MMI ≥ 25 mg		39	33.3 (13)	10.3 (4)	28.2 (11)
	15-20mg	14	28.6 (4)	0 (0)	0 (0)
	10mg	21	9.5 (2)	0 (0)*	0 (0)**
	≤ 5 mg	35	2.9 (1)	0 (0)***	2.9 (1)***

(%)

Fig. 7. TSH receptor antibody in patients with Graves' disease before and during the treatment with methimazole (MMI).

—○—: mean $\pm$ SEM.

よる CIC 値は、未治療 GD : 0.20 ± 0.12 , M_1 : 0.21 ± 0.10 , M_2 : 0.20 ± 0.08 , M_3 : 0.19 ± 0.08 , M_4 : 0.17 ± 0.05 を示し、その陽性率は、維持量の減少に伴ない、徐々に低下したが、推計学的に有意の差は認めなかった。

2) CI_q 法による CIC 値および CIC 陽性率

1) に述べた各群の CI_q 法による CIC 値は、未治療 GD : $17.5 \pm 7.2\%$, M_1 : $16.8 \pm 7.5\%$, M_2 : $15.8 \pm 4.7\%$, M_3 : $14.6 \pm 4.6\%$, M_4 : $12.6 \pm 4.7\%$ で、その陽性率は、維持量の減少に伴なって低下し、 M_3 , M_4 で、有意の低下を認めた (M_3 : $P < 0.05$, M_4 : $P < 0.01$)。

3) PA 法による CIC 値および CIC 陽性率

1) に述べた各群の CIC 値は、未治療 GD : $7.0 \pm 8.6\%$, M_1 : $5.2 \pm 3.1\%$, M_3 : $3.4 \pm 1.3\%$, M_3 : $3.3 \pm 1.1\%$, M_4 : $3.0 \pm 1.3\%$ で、その陽性率は、維持量の減少に伴なって低下し、 M_3 , M_4 で、有意の低下を認めた (M_3 : $P < 0.02$, M_4 : $P < 0.01$)。

12 MMI 維持量別の TRAb 値 (Fig. 7)

未治療 GD 30 例、および、MMI 投与中 GD 70 例の TRAb 値は、未治療 GD : $28.8 \pm 27.8\%$ (30), M_1 : $13.8 \pm 24.4\%$ (26), M_2 : $1.1 \pm 24.7\%$ (12), M_3 : $-2.7 \pm 25.1\%$ (9), M_4 : $-4.6 \pm 19.4\%$ (23) で、維持量の減少に伴なって、有意に低下した (M_1 : $P < 0.05$, M_2 , M_3 , M_4 : $P < 0.01$)。

13 MMI 維持量別の LBG (Fig. 8)

1) PHA 刺激による LBG

未治療 GD 21 例、および MMI 投与中 GD 37 例の PHA 刺激による LBG は、未治療 GD : 32163 ± 13452 cpm (21), M_1 : 31481 ± 13945 cpm (22), M_2 : 33402 ± 19380 cpm (5), $M_3 + M_4$: 26018 ± 13877 cpm (10) で、推計学的に有意の変動を認めなかった。

Fig. 8. Lymphoblastogenesis induced by Phytohemagglutinin (PHA), Concanavalin A (Con A), and Pokeweed Mitogen (PWM) in patients with Graves' disease before and during the treatment with methimazole (MMI). Shaded area indicates normal range.

2) Con A 刺激による LBG

未治療 GD 12例, および, MMI 投与中 GD 34例の Con A 刺激による LBG は, 未治療 GD: $6324 \pm 5029 \text{ cpm} (12)$, $M_1: 6720 \pm 3862 \text{ cpm} (21)$, $M_2: 8470 \pm 3033 \text{ cpm} (3)$, $M_3 + M_4: 6668 \pm 5080 \text{ cpm} (10)$ で, 推計学的に有意の変動を認めなかった。

3) PWM 刺激による LBG

未治療 GD 13例, および, MMI 投与中 GD 31例の PWM 刺激による LBG は, 未治療 GD: $22554 \pm 9007 \text{ cpm} (13)$, $M_1: 16520 \pm 5841 \text{ cpm} (20)$, $M_2: 12833 \pm 3864 \text{ cpm} (3)$, $M_3 + M_4: 12767 \pm 7628 \text{ cpm} (8)$ で, 維持量の減少に伴って, 有意に低下した (M_1 , $M_3 + M_4: P < 0.05$)。

考 案

バセドウ病における CIC は, 1974年, Calder らによる報告⁶⁾以来, 種々の方法にて, その存在が報告されている。本研究では, 測定原理の異なる 3 種の CIC 測定法を用いて, CIC を測定し, いずれの方法によっても, 本症に CIC が検出されることを認め, 3 法のいずれかで, CIC が陽性を示した症例は, 本症の約半数に達した。

未治療バセドウ病の同一例について, 各測定法による CIC の陽性率は, PEG 法で 17.5%, CIq 法で 22.5%, PA 法で 30.0% と, 測定法によって異なった。文献的にも, CIq 法と同様に, CIC と補体との反応を利用した抗補体試験⁶⁾では, 17.0%, 補体消費試験¹⁰⁾では 15.0%, CIC と C_3 レセプターとの結合で見た Raji cell 法¹⁵⁾では 93.0%, PA 法と同様に, CIC と IgG Fc レセプターとの結合で見た血小板凝集法³⁰⁾では 44.2% と, 測定法によって異なる。今回行なった, 3 法による CIC の, それぞれの値の間には, 有意の相関関係を認めなかったことから, 各測定法による CIC の陽性率の相違は, 測定感度の相違のみならず, 各測定法が, CIC の多面的な性質の一面をとらえていることによるものと考えられた。従って, 本症の CIC に関する研究では, 測定原理の異なる方法を用いて, 比較, 検討することが, 重要と考えられた。

本研究で用いた 3 種の CIC の測定法のうち, PEG 法は, CIC の蛋白量を測定する方法であり, CIq 法は, CIC が, CIq をはじめとした, 一連の補体系を活性化することにより, また, PA 法は, CIC が, その構成成分である IgG の Fc 部分を介して, Fc レセプターを有する, リンパ球, マクロファージ, K 細胞, 血小板, あるいは, 好中球と結合することにより, これらの免疫担当細胞に, 種々の影響を与える CIC を測定する方法であると考えられた。

これらの 3 法のうち, CIq 法で測定した CIC 値と, 血中 T_4 値との間に, 負の相関関係を認めたが, 同様の傾向は, T_3 , FT_4 値との間にも認められた。このことから, 甲状腺機能状態が, CIC の代謝に影響し, 機能亢進の高度のものでは, CIC 値が低下するものと考えられたが, 逆に, 補体系の活性化能を有する CIC が, 血中甲状腺ホルモン値を規定する因子に, 何らかの影響を与えているとも考えられた。一方, PEG 法によって検出される CIC, すなわち, その分子量が巨大なものや, PA 法によって検出される CIC, すなわち, Fc レセプターとの結合能を有するものの陽性率は, 甲状腺腫が軽度のもので, 有意に高く, また, 3 法による CIC 値は, いずれも, TSH binding inhibition で見た TRAb 値との間に, 負の相関関係を示し, さらに, LATS との間にも, 同様の傾向を示した。

これらの成績を考えあわせると, CIC は, TRAb 等の異常甲状腺刺激物質に対する抑制的な因子の一つとして, 本症の病態に関与している可能性が示唆された。今後, TRAb を構成成分とする

CICの存在、および、TRAbの産生に及ぼすCICの影響について、詳細な検討が必要と考えられる。

本症に見られる眼球突出は、その発現に、免疫学的な機序が考えられており、眼球突出例の外眼筋に、抗サイログロブリン抗体を含む免疫複合体の存在が報告²³⁾され、CICとK細胞との相互作用による抗体依存性細胞障害反応(ADCC)の機序により、外眼筋の組織障害が惹起されると想定¹⁷⁾されている。しかし、サイログロブリン特異的なCICと、眼球突出との関係は、相関関係を認めたとする報告^{18) 31)}と、これを否定する報告^{18) 25)}があり、一定の見解が得られていない。今回の検討で、PA法により検出した抗原非特異的なCICのFcレセプターとの結合能が、眼球突出を伴った例で、高値を示したことは、興味深いことである。

かかるCICおよび甲状腺刺激性抗体の産生に関与する細胞性免疫能を、リンパ球幼若化反応で見ると、T細胞マイトゲンであるPHA、および、サプレッサーT細胞マイトゲンであるCon Aの各刺激で、ともに、低下傾向を認め、B細胞マイトゲンであるPWMの刺激では、増加傾向を認めた。同様のことは、宮下²¹⁾らも認めており、また、森ら²²⁾は、本症で、T細胞数の減少、および、B細胞数の増加を、さらに、Thielemansら³²⁾は、サプレッサーT細胞と考えられるOKT8⁺細胞の減少を報告している。このように、本症においては、単に、抗原特異性の免疫異常^{5) 7) 8)}に留まらず、抗原非特異的な方法によって、免疫担当細胞の数、機能に異常が認められ、今回検索した以外にも、マクロファージ貪食能の低下¹¹⁾、細胞障害性T細胞活性の低下³³⁾等の、細胞性免疫の異常が報告されている。また、PWM刺激によるLBGとTRAb値との間に、正の相関関係を認めたが、PWM刺激による本症の 梢リンパ球の培養上清中に、TRAb活性を証明した報告²⁰⁾を考えあわせると、血中のTRAb値は、抗原非特異的なB細胞機能によって、規定されているものと考えられた。一方、CIC値は、PWM刺激によるLBGとの間に、明らかな相関関係を示さず、CIC値は、B細胞機能以外の種々の因子によっても規定されているものと考えられた。

MMIによる治療経過中のCIC値の推移を見ると、甲状腺機能の正常化に伴うMMIの維持量の減少とともに、CIC値は低下し、5mg以下の維持量では、いずれの測定法によるCIC値も正常化した。一方、TRAb値およびPWM刺激によるLBGも、CIC値と同様の傾向を示し、5mg投与時に正常化した。治療経過中のCIC値とTRAb値との間には、未治療時に見られた負の相関関係は認められなかった。このことから、本症のMMIによる治療経過中、甲状腺機能を正常に保ちながら、MMI投与量を漸減してゆく過程での、TRAb値の低下は、B細胞機能の低下によるもので、CICの抑制作用によるものとは考え難い。いずれにせよ、MMI投与経過中におけるB細胞機能の推移から、MMIが、単に、甲状腺ホルモンの合成を阻害するのみならず、免疫調整剤としての可能性も示唆された。これに対して、PHAやCon Aの刺激に対するT細胞の反応は、治療後も、低値に留まり、T細胞による遊走阻止試験で見たサプレッサーT細胞機能が、治療後も回復しないとするOkitaらの報告²⁶⁾、さらに、HLA-D、DR locusと本症との間に、連鎖不平衡が存在するという報告^{9) 34)}を考えあわせ、これらのT細胞の異常は、本症の基本的な障害であると推察された。

以上、バセドウ病は、サプレッサーT細胞の機能低下、および、B細胞の機能亢進状態を背景として、種々の因子の関与により、TRAb等の甲状腺刺激性抗体の産生が惹起されて発症するものと考えられた。本症の未治療時に見られるCICのうち、補体の活性化能を有するものは、TRAbの甲状腺ホルモン分泌刺激作用に対して、また、巨大な分子量を持つものや、Fcレセプターとの結合能を有するものは、TRAbのgoitrogenicな作用に対して、抑制的に作用する因子の一つと考えられ、免疫機構の異常によって惹起される本症において、その病態を代償する方向にも免疫機構が関与しているものと推定された。

結 語

バセドウ病において、抗原非特異的な線胞性免疫異常を背景に、TSHレセプター抗体の産生を惹起する機構が推定され、本症に見られる流血中免疫複合体は、TSHレセプター抗体の、甲状腺ホルモン分泌刺激作用、および, goitrogenic な作用の両者に対して、抑制的に作用する因子の一つと考えられた。

稿を終わるにあたり、御指導と御校閲を戴きました山崎教授に深謝致します。また、直接の御指導、御教授を戴きました仁瓶禮之助教授に感謝し、あわせて、広岡良文博士、伊藤光泰博士をはじめとした教室諸氏に深く感謝します。

文 献

- 1) 安倍千之, 塩川優一, 山形寿太郎, 奈須 一, 石黒康子, Chia, D., Barnett, E. V., and Pearson, C. M.: Polyethyleneglycol (PEG) および radial immunodiffusion (RID) による可溶性 immune complex の測定。厚生省特定疾患, 系統的血管病変に関する調査研究班1976年度報告書, 146—150, 1977.
- 2) Aoki, N., Pinnamaneni, K.M. and DeGroot, L.J.: Studies on suppressor cell function in thyroid disease. *J. Clin. Endocr. Metab.*, 48: 803—810, 1979.
- 3) Barkas, T., Al-Khateeb, S.F., Irvine, W.J., Davidson, N. McD. and Roscoe, P. Inhibition of antibody-dependent cell mediated cytotoxicity (ADCC) as a mean of detection of immune complexes in the sera of patients with thyroid disorders and bronchogenic carcinoma. *Clin. Exp. Immunol.*, 25: 270—279, 1976.
- 4) Brohee, D., Delespesse, G., Debisschop, M.J. and Bonnyns, M.: Circulating immune complexes in various thyroid diseases. *Clin. Exp. Immunol.*, 36: 379—383, 1979.
- 5) Calder, E.A., McLeman, D., Barness, E.W. and Irvine, J.W.: The effect of thyroid antigens on the in vitro migration of leucocytes from patients with Hashimoto thyroiditis. *Clin. Exp. Immunol.*, 12: 429—438, 1972.
- 6) Calder, E.A., Penhale, W.J., Barness, E.W. and Irvine, W.J.: Evidence for circulating immune complexes in thyroid disease. *Brit. Med. J.*, 2: 30—31, 1974.
- 7) G. Duchateau, J., Collet, H., Govaerts, A. and Bastenie, P.A.: Lymphocyte transformation with thyroglobulin in thyroid disease. *Clin. Exp. Immunol.*, 12: 439—445, 1972.
- 8) Ehrenfeld, E.N., Klein, E. and Benezra, D.: Human thyroglobulin extract as specific stimulators of sensitized lymphocytes. *J. Clin. Endocrinol.*, 32: 115—116, 1971.
- 9) Farid, N.R.: A study of human leucocyte D locus related antigens in Graves' disease. *J. Clin. Invest.*, 63: 108—113, 1979.
- 10) Feldt-Rasmussen, U., Bech, K., Date, J., Thyme, S., Larsen, J.H. and Nielsen, H.: Anticomplementary activity in diffuse and nodular goiters. *Acta Path. Microbiol. Scand. Sect. C*, 87: 365—370, 1979.
- 11) 船内正憲, 福岡尚文, 伊藤光泰, 広岡良文, 仁瓶禮之, 山崎 昇: ^{99m}Tc 標識ラテックス粒子を用いた末梢血中単球の食能の測定。医学のあゆみ, 126: 906—909, 1983.
- 12) Hallgren, R. and Wide, L.: Detection of circulating Ig G aggregates and immune complexes using ^{125}I -Protein A from staphylococcus aureus. *Am. Rheum. Dis.*, 35: 306—313, 1976.
- 13) Heide, D., Bolk, J.H., Bruin, T.W.A., Es, L.A., Daha, M.R., Bussemaker, J.K., Goslings, B.M. and Querido, A.: Circulating immune complexes and thyroid stimulating immuno-

- globulin before, during and after antithyroid therapy in patients with Graves' disease. *Lancet*, 1: 1376-1379, 1980.
- 14) 広岡良文: 自己免疫疾患における血中免疫複合体. 日本内科学会雑誌, 70: 1203, 1981.
- 15) Hoph, U., Hüteroth, T.H. and Kotulla, P.: Demonstration of circulating immune complexes in Graves' disease by the Raji cell technique and their relation to different thyroid autoantibodies. *Horm. Metab. Res.*, 11: 622-628, 1979.
- 16) Konishi, J., Herman, M.M. and Kriss, J.P.: Binding of thyroglobulin and thyroglobulin-antithyroglobulin immune complexes in human serum. *Endocrinology*, 95: 434-446, 1974.
- 17) Kriss, J.P. and Mehdi, S.Q.: Cell-mediated lysis of lipid vesicles containing eye muscle protein; implications regarding pathogenesis of Graves' ophthalmopathy. *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 76: 2003-2007, 1979.
- 18) Mariotti, S., DeGroot, L.J., Scarborou, D. and Medof, M.E.: Study of circulating immune complexes in thyroid disease; comparison of Raji cell radioimmunoassay and specific thyroglobulin-antithyroglobulin radioassay. *J. Clin. Endocr. Metab.*, 49: 679-686, 1979.
- 19) McKenzie, J.M., Gordon, J., Cassano, C., Andreoli, M. Eds.: Current topics in thyroid research. Proceedings of the 5th international thyroid conference. Academic press, New York, 1965, 445-454.
- 20) McLachlan, S.M., Smith, B.R., Peterson, V.B., Paeis, T.F. and Hall, R.: Thyroid-stimulating autoantibody production in vitro. *Nature*, 270: 447-449, 1977.
- 21) 宮下 守, 矢田純一, 新保敏和, 柿原歌子, 菅原真智子, 榎本仁志, 宮本正浩, 飯野史郎: 橋本病, Graves 病における T cell subclass の異常について. 臨床免疫, 10(7): 747-754, 1978.
- 22) 森 英光, 網野信行, 岩谷良則, 兜森 修, 浅利誠志, 本射滋己, 宮井 潔, 熊原雄一: 自己免疫性甲状腺疾患における末梢リンパ球 subpopulation に関する検討. 臨床免疫, 13[Suppl. 2]: 115-123, 1981.
- 23) 森 徹: 眼球突出症の成因と自己免疫. 医学のあゆみ, 102: 363-368, 1977.
- 24) Nedegger, U.E., Lambert, P.H., Gerber, H. and Miescher, P.H.: Circulating immune complexes in the serum in systemic lupus erythematosus and in carriers of hepatitis B antigen. Quantitation by binding to radiolabelled Clq. *J. Clin. Invest.*, 54: 297-309, 1974.
- 25) Ohtaki, S., Endo, Y., Horinouchi, K., Yoshitake, S. and Ishikawa, E.: Circulating thyroglobulin-antithyroglobulin immune complexes in thyroid disease using enzyme linked immunoassays. *J. Clin. Endocr. Metab.*, 52: 239-246, 1981.
- 26) Okita, N., How, J., Topliss, D., Lewis, M., Roe, V.V. and Volpe, R.: Suppressor T lymphocyte dysfunction in Graves' disease; role of H-2 histamine receptor bearing suppressor T lymphocytes. *J. Clin. Endocr. Metab.*, 53: 1002-1007, 1981.
- 27) Roitt, I.M.: Essential immunology. Blacwell Scientific Publications, London, 1980, 217-252.
- 28) Smith, B.R., Pyle, G.A., Peterson, V.B. and Hall, R.: Interaction of thyroid stimulating antibody with the human thyrotropin receptor. *J. Endocr.*, 75: 401-407, 1977.
- 29) Smith, B.R.: Receptor Regulation, 217-244. Ed. by Lefkowitz, R.J., Receptor and Recognition, series B, Chapman and Hall, London, 1981.
- 30) 鈴木秀郎, 江藤澄哉, 小野 明, 柴田洋一: 各種甲状腺疾患における血中免疫複合体, 厚生省自己免疫班昭和55年度研究業績, 344-347, 1981.
- 31) Takeda, Y. and Kriss, J.D.: Radiometric measurement of thyroglobulin immune complex in human serum. *J. Clin. Endocr. Metab.*, 44: 46-55, 1977.

- 32) Thielemans, C., Vanhaelst, L., DeWaele, M., Jonckleer, M. and Van Camp, B.: Auto-immune thyroiditis; a condition related to a decrease in T suppressor cells. Clin. Endocrinol., 15: 259–263, 1981.
- 33) Tung, K.S., DeHoratius, R.J. and Williams, R.C.: Study of circulating immune complex size in systemic lupus erythematosus. Clin. Exp. Immunol., 43: 615–625, 1981.
- 34) Volpe, R.: Autoimmunity in the endocrine system. Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York, 1981, 59–68.
- 35) Williams, R.C.Jr.: Immune complexes in clinical and experimental medicine. Harvard University Press, London, 1980, 167–194.
- 36) 米増國雄: Clq の精製法。1376–1380, 日本免疫学会編, 免疫実験操作法B, 1981.
- 37) Zubler, R.H., Lange, G., Lambert, P.H. and Piescher, P.A.: Detection of immune complexes in unheated sera by modified ^{125}I -Clq and application of the test to SLE. J. Immunol., 166: 232–235, 1975.

(受付日: 58, 8. 5)